Kronik Periodontitli Hastalardan İzole Edilen Anaerop Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılık Durumlarının Araştırılması

Investigation of Antibiotic Susceptibilities of Anaerobic Bacteria Isolated From Patients With Chronic Periodontitis

Ferda Tunçkanat[1], Banu Sancak[1], Belgin Altun[2], Erhan Dursun[3], Fatma Nur Akdoğan-Kittana[1]

[1]Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye
[2]Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Dezenfeksiyon Sterilizasyon ve Antisepsi Bölümü, Ankara, Türkiye
[3]Hacettepe Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Özet

Amaç: Bu çalışmada, Hacettepe Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı'na periodontolojik sorunlarla yönlendirilmiş ve kronik periodontit tanısı konmuş hastalardan anaerop bakterilerin izolasyonu ve bu izolatların çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılık durumlarının ve β-laktamaz aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Bu amaçla 45 kronik periodontitli hastadan izole edilen 34 anaerop bakteri çalışmaya dahil edilmiştir. İzolatların tanımlanmalarında konvansiyonel yöntemlerin yanı sıra "matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight" kütle spektrometresi (VITEK® MS v3.0, bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) ve API 20A (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) sistemleri de kullanılmıştır. İzolatların ampisilin, ampisilin-sulbaktam, piperasilin, piperasilin-tazobaktam, sefoksitin, seftriakson, imipenem, moksifloksasin, klindamisin, metronidazol ve tigesikline karşı *in vitro* duyarlılık durumları gradyan yöntemiyle (Etest®, bioMérieux, Marcy l'Ètoile, Fransa) saptanmıştır. Ayrıca, kromojenik sefalosporin (BBL™ Cefinase™, Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD) yöntemiyle β-laktamaz aktivitesi araştırılmıştır.

Bulgular: Otuz dört izolatın 21'i Gram-negatif basil (11 *Prevotella* spp., 6 *Porphyromonas* spp., 3 *Fusobacterium* spp. ve 1 *Capnocytophaga* sp.), 7'si Gram-negatif kok *(Veillonella parvula)*, 5'i ise anaerop Gram-pozitif sporsuz basil (4 *Propionibacterium* spp., 1 *Bifidobacterium* sp.) olarak tanımlanmıştır. Bir Gram-negatif kokobasil ise tanımlanamamıştır. Tanımlanan 33 izolatın tümü imipenem, moksifloksasin ve tigesikline duyarlı

Abstract

Objective: The aim of this study was to isolate anaerobic bacteria from the patients who were consulted in Department of Periodontology, Faculty of Dentistry, Hacettepe University, because of periodontal problems, and were diagnosed as chronic periodontitis; and to search susceptibilities and β-lactamase activities of the isolates.

Methods: For this purpose, 34 anaerobic bacteria isolated from 45 patients with chronic periodontitis were studied. For identification, conventional identification tests as well as matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (VITEK® MS v3.0, bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) and API 20A (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) systems were used. *In vitro* susceptibilities of isolates against ampicillin, ampicillin-sulbactam, piperacillin, piperacillin-tazobactam, cefoxitin, ceftriaxone, imipenem, moxifloxacin, clindamycin, metronidazole and tigecycline were detected by gradient method (Etest®, bioMérieux, Marcy l'Ètoile, France). Additionally, β-lactamase activity was tested with chromogenic cephalosporine (BBL™ Cefinase™, Becton Dickinson, Sparks, MD, USA) method for all isolates.

Results: Of 34 isolates, 21 were Gram-negative bacilli (11 *Prevotella* sp., 6 *Porphyromonas* spp., 3 *Fusobacterium* spp., 1 *Capnocytophaga* sp.), 7 were Gram-negative cocci *(Veillonella parvula)* and 5 were Gram-positive non-spore forming bacilli (4 *Propionibacterium* spp., 1 *Bifidobacterium* sp.), 1 isolate (Gram-negative cocobacillus) could not be identified. Thirty-three isolates were susceptible to imipenem, moxifloxacin

ORCID iDs of the authors: F.T. 0000-0003-2635-8505; B.S. 0000-0003-3800-3111; B.A. 0000-0002-8352-9692; E.D. 0000-0003-2137-8638; F.N.A.K. 0000-0003-1498-5368

Cite this article as: Tunçkanat F, Sancak B, Altun B, Dursun E, Akdoğan-Kittana FN. [Investigation of antibiotic susceptibilities of anaerobic bacteria isolated from patients with chronic periodontitis]. *Klimik Derg.* 2019; 32(3): 240-4. Turkish.

10th Balkan Congress of Microbiology (16-18 Kasım 2017, Sofya, Bulgaristan)'de bildirilmiştir.
Presented at the 10th Balkan Congress of Microbiology (16-18 November 2017, Sofia, Bulgaria).

Yazışma Adresi / Address for Correspondence:
Ferda Tunçkanat, Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sıhhiye, Ankara, Türkiye
E-posta/E-mail: ftunckan@gmail.com

(Geliş / Received: 21 Ocak / January 2019; Kabul / Accepted: 21 Eylül / September 2019)
DOI: 10.5152/kd.2019.69

bulunmuştur. En yüksek direnç oranları ise ampisilin ve metronidazole karşı gözlenmiştir. Ampisilin direnci özellikle anaerop Gram-negatif basillerde saptanmış olup, iki izolatta β-laktamaz aktivitesi pozitif bulunmuştur.

Sonuçlar: Sınırlı sayıda izolatla gerçekleştirilmiş olmakla birlikte, bu çalışmanın sonuçları merkezimizdeki oral anaerop bakterilerin antibiyotik duyarlılık durumlarına ilişkin bilgi sağlaması açısından önemlidir. Anaeropların duyarlılık oranlarının çeşitli merkezler arasındaki farklılıkları nedeniyle, her merkezin kendi direnç paternlerini saptaması anaerop infeksiyonların ampirik tedavisinde yol gösterebilir.

Klimik Dergisi 2019; 32(3): 240-4.

Anahtar Sözcükler: Kronik periodontit, anaerop bakteriler, antibiyotik duyarlılık testleri.

and tigecycline. The highest resistance was observed to ampicillin and metronidazole. Ampicillin resistance was common particularly in Gram-negative anaerobic bacteria which two isolates were found β-lactamase positive.

Conclusions: Although a limited number of the isolates was included in this study, its results are important in terms of providing information about antibiotic susceptibility patterns of oral anaerobic bacteria in our center. Because of differences in susceptibility profiles of anaerobes among medical centers, detecting resistance patterns in each center may be guiding empirical treatment of anaerobic infections.

Klimik Dergisi 2019; 32(3): 240-4.

Key Words: Chronic periodontitis, anaerobic bacteria, antibiotic susceptibility tests.

Giriş

İnsanlarda ağız, gastrointestinal sistem (GİS), deri ve kadın genital sistem mikrobiyotasının önemli bir bölümünü oluşturan anaerop bakteriler, anatomik bütünlüğün bozulmasına neden olan ve/veya mikrobiyota üyelerinin yer değiştirmesiyle sonuçlanan ameliyat, travma, tümör varlığı, ağız sekresyonlarının aspirasyonu gibi durumlarda, uygun üreme koşullarıyla karşılaştıkları zaman endojen ve polimikrobiyal infeksiyonlara neden olurlar. Bu infeksiyonlarda anaerop ve fakültatif anaerop bakteriler bir arada bulunurlar. Nadir olmayan bu infeksiyonlar, kimi zaman yaşamı tehdit edecek ciddiyette olabilirler (1,2).

Oldukça nazlı ve özel üreme gereksinimleri olan anaerop bakterilerin klinik örneklerden izolasyonları ve tanımlanmaları zor, zaman alıcı ve zahmetlidir. Bu nedenlerden dolayı rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında her zaman anaerop bakteriyoloji çalışmaları yapılamamakta ya da sınırlı olarak yapılabilmektedir. Anaerop infeksiyonların mikrobiyolojik tanısında klinik örneklerin alınmasından, laboratuvara iletilmesine, izolasyon ve tanımlama çalışmalarına kadar her aşama bilgi, deneyim ve özel ekipman gerektirmektedir (3,4). Aynı nedenlerle bu bakterilerde antibiyotik duyarlılık çalışmalarının yapılması da belirli indikasyonlarla sınırlandırılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılmasının önerildiği bir diğer durum da her merkezin belirli aralıklarla kendi anaerop izolatlarının direnç durumlarını saptaması ve böylece anaerop infeksiyonlarda önerilen ampirik tedavi yaklaşımına yön verilmesidir (5).

Ampirik tedavinin en çok kullanıldığı alanlardan birisi olan diş hekimliği açısından konu ayrı bir önem taşımaktadır. Özellikle kronik periodontit gibi dişeti infeksiyonlarında etken olan anaerop bakteriler, aynı zamanda ağızla ilişkili olarak gelişen baş-boyun ve aspirasyonla ilişkili akciğer-plevra infeksiyonlarında da etken olabileceğinden, bu bakterilerin izole edilerek antibiyotik direnç durumlarının belirlenmesi, gerek diş hekimliğinde, gerekse diğer klinik alanlarda ampirik tedavinin belirlenmesi açısından son derece önemlidir (2,6). Öte yandan oral anaeropların antibiyotik duyarlılık profiline yönelik çalışma sayısı oldukça sınırlıdır (7).

Bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı'na periodontolojik sorunlarla yönlendirilmiş ve kronik periodontit tanısı almış hastalardan anaerop bakterilerin izolasyonu, tanımlanmaları ve çeşitli antibiyotiklere karşı *in vitro* duyarlılık durumlarının araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler

Çalışmaya Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na dişeti problemleriyle yönlendirilmiş, yaşları 18-65 arasında değişen, ağızda dişleri bulunan, son 3 ay içinde antimikrobik tedavi almamış, sistemik olarak sağlıklı 45 hasta alınmıştır. Bu hastalar klinik ve radyolojik (panoramik ve periapikal filmler) bulgularla kronik periodontit tanısı konmuş, 5 mm'den daha derin cepleri ve alveoler kemik kaybı olan hastalardır. Hastaların cep derinliği ölçümlerinden sonra diş hekimliğinde örnek almak amacıyla kullanılan "paper point" yardımıyla alınan subgingival plak örnekleri, transport amacıyla, hemin ve K vitamini eklenmiş zengin BBL™ Fluid Thioglycollate Medium (Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD) içerisinde en kısa sürede Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına ulaştırılmıştır. Örnekler bekletilmeden anaerop kültür için işleme alınmıştır. Tiyoglikolat besiyeri iyice vortekslendikten sonra buradan alınan örneklerde anaerop kültür için %5 koyun kanı, hemin ve K vitamini içeren Schaedler agarı (Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD), aerop kültür için kanlı agar (Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD), kapnofil bakterilerin ekarte edilmesi için ise çikolata agarı kullanılmıştır (3,4). Tiyoglikolat besiyerine ayrıca ekim yapılmamış, içerisinde "paper point" örnekleri olan besiyerleri doğrudan inkübe edilmiştir. Anaerop besiyerleri, anaerop kavanozda AnaeroGen (Oxoid, Basingstoke, Birleşik Krallık) kitleri kullanılarak ilk inkübasyon süresi en az 48 saat olacak şekilde inkübe edilmiştir. Ön değerlendirmeler yapıldıktan sonra anaerop besiyerlerinin inkübasyon süreleri 7-10 güne kadar uzatılmıştır. Çikolata besiyerleri %5-10 CO_2'li ortamda 48 saat inkübe edilmiştir (3,4). Primer plakların değerlendirilmesinde anaerop kanlı agarda (Schaedlar agarı) üreyen her bir farklı koloniden aerotolerans testleri yapılmış, aerotolerans testi pozitif olan koloniler zorunlu anaerop olarak değerlendirilmiştir. Bu kolonilerin morfolojik özellikleri, pigment oluşturmaları, uzun dalga (366 nm) ultraviyole ışığı altında floresans oluşturma özellikleri değerlendirilmiş, Gram boyamasıyla her bir koloninin mikroskopik özellikleri incelenmiştir. Gerektiğinde katalaz ve spot indol testleri yapılmış ve kimi Gram-negatif basiller için tanımlama diskleriyle duyarlılık paternleri saptanmıştır (3,8). İzole edilen anaerop bakterilerin tanımlanması amacıyla (VITEK® MS v3.0, bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) ve API 20A (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) sistemleri kullanılmıştır.

İzolatların 11 antibiyotiğe (ampisilin, ampisilin-sulbaktam, piperasilin, piperasilin-tazobaktam, sefoksitin, seftriakson, imipenem, moksifloksasin, klindamisin, metronidazol ve tigesiklin) karşı *in vitro* duyarlılık durumları gradyan yöntemiyle (Etest®, bioMérieux, Marcy l'Ètoile, Fransa) araştırılmıştır. Duyarlılık testleri üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Gradyan test yöntemiyle elde edilen minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) sonuçları European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) tarafından önerilen duyarlılık sınır değerleri kullanılarak değerlendirilmiştir (9). Duyarlılık sınır değerleri EUCAST tarafından belirlenmemiş olan antibiyotikler için ise Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından önerilen sınır değerler esas alınmıştır (5). İzolatların β-laktamaz aktiviteleri kromojenik sefalosporin (BBL™ Cefinase™ veya BBL™ DrySlide™ Nitrocefin, Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD) yöntemiyle araştırılmıştır (5).

Tablo 1. Anaerop Bakteri İzolatlarının Dağılımı

Tür	Sayı
Prevotella denticola	6
Prevotella intermedia	2
Prevotella melaninogenica	2
Prevotella buccae	1
Porphyromonas asaccharolytica	5
Porphyromonas gingivalis	1
Fusobacterium nucleatum	2
Fusobacterium varium	1
Capnocytophaga sp.	1
Veillonella parvula	7
Propionibacterium (Cutibacterium) acnes	2
Propionibacterium propionicum	1
Propionibacterium granulosum	1
Bifidobacterium sp.	1
Tanımlanamayan Gram-negatif kokobasil	1

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi, Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje no. THD-2015-9076). Bu çalışma için Etik Kurulu onayı ve hastalardan da bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Bulgular

Tanımlama sonuçları: Kırk beş hastadan izole edilen 34 anaerop bakterinin 21'i Gram-negatif basildir. Bunların cinslere göre dağılımı şu şekildedir: 11 *Prevotella* spp., 6 *Porphyromonas* spp., 3 *Fusobacterium* spp., 1 *Capnocytophaga* spp. İzole edilen 7 Gram-negatif kokun tümü *Veillonella parvula* olarak tanımlanmıştır. Beş izolat ise anaerop Gram-pozitif sporsuz basildir; bunlardan 4'ü *Propionibacterium* spp., 1'i *Bifidobacterium* spp.olarak tanımlanmıştır. Bir Gram-negatif kokobasil ise tanımlanamamıştır. İzole edilen anaerop bakterilerin cins ve türlere göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmektedir.

Antibiyotik duyarlılık ve β-laktamaz test sonuçları: Tanımlanan 33 anaerop bakteri izolatı için gradyan yöntemiyle 11 antibiyotiğin MİK değerleri saptanmıştır; sonuçlar EUCAST tarafından önerilen duyarlılık sınır değerlerine göre belirlenmiştir (9). EUCAST standardlarında yer almayan sefoksitin, seftriakson ve moksifloksasin için ise CLSI tarafından önerilen duyarlılık sınır değerleri kullanılmıştır. Günümüzde tigesiklin için her iki kurumca belirlenmiş bir sınır değeri henüz bulunmamaktadır (5,9). Bu antibiyotiğe karşı MİK değerlerinin çok düşük olması nedeniyle *in vitro* direnç olmadığı kabul edilmiştir. Direncin değerlendirilmesinde her bir cins ya da türe ait izolat sayıları az olduğu için $MİK_{50}$, $MİK_{90}$ değerleri ve direnç yüzdeleri hesaplanmamış, bunun yerine dirençli izolatların sayıları belirtilmiştir. İncelenen Gram-negatif ve Gram-pozitif anaeroplar için dirençli izolat sayıları Tablo 2'de belirtilmiştir. İzolat sayılarının çok yüksek olmaması nedeniyle, dirençli izolatların yalnızca cinslere göre dağılımı gösterilmiştir.

Cefinase™ kağıt diskiyle β-laktamaz aktivitesi araştırılan izolatların yalnız ikisi (birer *P. intermedia* ve *P. melaninogenica* izolatı) pozitif olarak bulunmuştur.

Tablo 2. Denenen 11 Antibiyotiğe Dirençli İzolat Türlerinin Dağılımı

Anaerop Bakteri İzolatları		Antibiyotiklere Dirençli İzolat Sayıları										
		AMP	SAM	PP	TZB	FX	CRO	IP	MX	CM	MZ	TGC*
Gram-negatif basiller (n=21)	*Prevotella* spp. (n=11)	4		3			2			1	2	
	Porphyromonas spp. (n=6)	1								1		
	Fusobacterium spp. (n=3)	1										
	Capnocytophaga sp. (n=1)									1		
Gram-negatif koklar (n=7)	*Veillonella parvula* (n=7)	2	1	3	2						1	
Gram pozitif sporsuz basiller (n=5)	*Propionibacterium* spp. (n=4)										4	
	Bifidobacterium sp. (n=1)					1					1	
Toplam (n=33)		8	1	6	2	1	2	-	-	3	8	-

AMP: ampisilin, SAM: ampisilin-sulbaktam, PP: piperasilin, TZB: piperasilin-tazobaktam, FX: seftriakson, CRO: seftriakson, IP: imipenem, MX: moksifloksasin, CM: klindamisin, MZ: metronidazol, TGC: tigesikilin.

*Belirlenmiş herhangi bir sınır değer bulunmamaktadır. Tüm izolatların MİK değerleri <0.5 µg/ml olduğu için hepsi *in vitro* olarak duyarlı kabul edilmiştir.

İrdeleme

Kronik periodontiti olan hastalardan izole edilen bakteriler, kimi zaman ağız mikrobiyotası üyelerini de yansıtabilmekle birlikte bunların önemli bir kısmı periodontal patojenlerdir (6).

Bu çalışmaya 45 hastadan izole edilen 34 anaerop bakteri dahil edilmiştir. Bu sayının beklenenden daha az olduğu düşünülebilirse de primer izolasyonda saptanan anaeropların bir kısmı pasajlar sırasında kaybedilmiştir. Ayrıca örnekler alındıktan sonra en kısa sürede laboratuvara iletilmekle birlikte, transport için anaerop transport besiyeri/sistemleri yerine zorunluluk nedeniyle tiyoglikolat besiyeri kullanılmıştır. Az da olsa bu durum izolasyon sayısını etkilemiş olabilir.

İzole edilen anaerop bakterilerin ağırlıklı bir bölümü *Prevotella, Porphyromonas, Fusobacterium* gibi anaerop Gram-negatif bakteri cinslerine aittir (10,11). Bu çalışmada izole edilen 34 anaerop bakteriden 20'si bu üç cinse ait bulunmuştur. Ağız boşluğundan sıklıkla izole edilen *V. parvula*, özellikle diş plaklarını kolonize eder; primer bir periodontal patojen olmamakla birlikte diğer klinik örneklerden izole edilmesi beklenmeyen bir durum değildir (10). Bu çalışmada 34 izolatın 7'si *V. parvula* olarak tanımlanmıştır. Periodontit olgularından izole edilen anaerop Gram-pozitif sporsuz basiller de benzer şekilde, ağız hijyeni bozuk bireylerde, sayıları göreli olarak artan *Actinomyces, Propionibacterium, Bifidobacterium* gibi cinslere aittir (6,11). Bu çalışmada *Actinomyces* türleri izole edilmemekle birlikte *Propionibacterum* ve *Bifidobacterium* türleri izole edilmiştir.

Kronik periodontite yol açan bakteriler aynı zamanda ağız mikrobiyotasından köken alan baş-boyun ve akciğer-plevra gibi diğer infeksiyonlara da neden olabileceklerinden, bu bakterilerin antibiyotik direnç profillerinin bilinmesi, anaerop infeksiyonların tedavisinde temel ilke olan ampirik tedavinin belirlenmesi açısından önem taşır. Buna ek olarak anaerop bakterilerde giderek artan antibiyotik direnci konunun önemini daha da artırmaktadır (11-13). Ancak literatür incelendiğinde oral anaerop bakterilerin *in vitro* antibiyotik duyarlılığıyla ilgili çalışmaların sınırlı sayıda olduğu görülmektedir (7,11,14). Bu nedenle bu çalışmada standard kılavuzlarda önerilen antibiyotikler seçilmiş olup ülkemizde olmayan piperasilin ve sefoksitin gibi antibiyotikler de çalışmaya alınmıştır.

Bizim çalışmamızda oral anaerop bakterilerin *in vitro* duyarlılıkları araştırılmış ve araştırılan antibiyotikler arasında imipenem, moksifloksasin ve tigesikline *in vitro* direnç olmadığı görülmüştür. Literatürde anaerop Gram-negatif basillerle ilgili duyarlılık çalışmalarında daha çok *Bacteroides* türleri üzerinde çalışılmış olmakla birlikte genel olarak karbapenem direncinin anaerop Gram-negatif bakterilerde halen düşük oranlarda görüldüğü dikkat çekmektedir. Hastey ve arkadaşları (15)'nın yapmış oldukları bir çalışmada *Prevotella*, *Fusobacterium, Veillonella* türleri ve Gram-pozitif sporsuz basillerden *P. acnes* için imipenem direnç oranı %0 olarak bulunmuştur. Benzer şekilde diğer çalışmalarda da *Prevotella* ve *Fusobacterium* türlerinde imipenem direnci saptanmamıştır (16,17).

Moksifloksasin anti-anaerop etkisi iyi bilinen florokinolon grubu bir antibiyotiktir. Anaerop Gram-negatif basillerle yapılan çeşitli çalışmalarda bu antibiyotiğe karşı direnç oranlarının değişkenlik gösterdiği görülmektedir. *Prevotella* türlerinde moksifloksasin direnci %9-24 olarak saptanırken, *Fusobacterium* türlerinde bu oran %5-11 olarak bildirilmiştir (15,18). Literatürde tigesiklin için genellikle *Bacteroides* türlerine ait veri bulunmakta olup diğer anaerop Gram-negatif basillere ait sınırlı veri bulunmaktadır; 2018 yılında yapılan çok yeni bir çalışmada anaerop Gram-negatif basillerde tigesiklin duyarlılığı araştırılmış ve geniş bir MİK aralığı elde edilmiştir (18).

Bu çalışmada en yüksek direnç ampisilin ve metronidazole karşı saptanmıştır. Ampisiline dirençli 8 izolatın tümü Gram-negatif bakteriler olup bunların 4'ü aynı zamanda piperasiline de direnç göstermektedir. Oral anaerop patojenlerle yapılmış bir çalışmada *Prevotella* türlerinde amoksisilin direnci %4, *F. nucleatum*'da %2, *P. gingivalis*'te %0 olarak bulunmuştur (7). Yine ağız bakterilerinde yapılmış daha yeni bir çalışmada da *Porphyromonas* türlerinde amoksisilin direnci saptanmamıştır (11). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen anaerop bakterilerle yapılan duyarlılık çalışmalarında ise daha yüksek direnç oranları bildirilmektedir. Çeşitli çalışmalarda penisilinlere karşı saptanan direnç oranı *Prevotella* türleri için %49-91 olarak saptanırken, *Porphyromonas* türlerinde %21, *Fusobacterium* türlerinde %0-16, *Veillonella* türlerinde %28-100 olarak bildirilmiştir (15-17,19). Bizim çalışmamızda yalnızca 2 *Prevotell*a izolatında β-laktamaz aktivitesi saptanmış olup bu oran diğer çalışmalara göre daha düşüktür. Bu bulgu penisilin grubu antibiyotiklere karşı direncin farklı mekanizmalara bağlı olabileceğini düşündürmektedir (12,13).

Metronidazol genel olarak anaerop Gram-negatif basillere etkili bir antibiyotik olarak bilinmekle birlikte son yıllarda yapılan çalışmalarda *Prevotella, Porphyromonas* ve *Bacteroides* türlerinde metronidazol direnci bildirilmeye başlamıştır (14,15,20,21). Bizim çalışmamızda 2 *P. denticola* izolatında metronidazole yüksek direnç saptanmış, duyarlılık testinin tekrarlanması sonucunda da bu bulgu değişmemiştir. Literatürde *Prevotella* türlerinde bildirilen metronidazol direnç oranları %0-3'tür (7,15-18). Metronidazol direnci anaerop Gram-pozitif sporsuz basillerde bilinen bir durumdur. Bizim çalışmamızda anaerop Gram-pozitif sporsuz basillerin tümü beklenildiği üzere metronidazole dirençli bulunmuştur.

Anaerop bakterilerde sefoksitin ve klindamisin direnci artış göstermekte olup direnç oranları merkezler arası değişkenlik göstermektedir. Bu çalışmada yalnızca 1 *Bifidobacterium* sp. izolatında sefoksitin direnci saptanırken, diğer 32 izolat bu antibiyotiğe duyarlı bulunmuştur. Klindamisin direnci değerlendirildiğinde ise direncin *P. denticola, P. asaccharolytica* ve *Capnocytophaga* sp. olmak üzere yalnızca 3 Gram-negatif basilde saptandığı görülmüştür. Veloo ve arkadaşları (7) anaerop oral izolatlarda yaptıkları bir çalışmada klindamisin direncini farklı *Prevotella* türlerinde %0-4 olarak bulmuşlar, *F. nucleatum*'da ise direnç saptamamışlardır. Öte yandan ağız dışı izolatlarla yapılan bir diğer çalışmada klindamisin direnci *Prevotella* türlerinde %45, *Fusobacterium* türlerinde ise %21 olarak bulunmuştur (17).

Sonuç olarak anaerop bakterilerde antibiyotik direncinde görülen değişiklikler dinamik bir süreç oluşturmaktadır. Bu konuda ülkemizde yapılan çalışmalar sınırlıdır. Özellikle kronik periodontit olgularından izole edilen ağız patojenleriyle yapılan çalışmalar, diş hekimliğinde olduğu kadar, baş-boyun,

akciğer ve plevra infeksiyonlarının tedavisinde de yol gösterici olacaktır. Bu çalışmada izolat sayısı az olmakla birlikte oral anaeropların antibiyotik duyarlılık paternleriyle ilgili bir araştırma olması ve konuyla ilgili verilerin sınırlı oluşu nedeniyle, bu çalışmanın ulusal literatüre bir katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Buna ek olarak direnç oranlarının merkezler arası önemli farklılıklar göstermesi nedeniyle de merkezlerin kendi direnç paternlerini saptaması, anaerop infeksiyonların ampirik tedavisinde yol gösterici olması açısından büyük önem taşımaktadır.

Çıkar Çatışması
Yazarlar, herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Kaynaklar

1. Aagaard K, Luna RA, Versalovic J. The human microbiome of local body sites and their unique biology. *In:* Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 8th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders, 2015: 11-8.
2. Cohen-Poradusu R, Kasper DL. Infections due to mixed anaerobic organisms. *In:* Kasper DL, Fauci AS, eds. *Harrison's Infectious Diseases.* 3rd ed. New York, NY: McGraw Hill Education, 2017: 602-11.
3. Procop GW, Church DL, Hall GS, *et al. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 7th ed. Philadelphia, PA: Wolters Kluver Health, 2017: 983-1073.
4. Mangels JI. Culture media for anaerobes. *In:* Isenberg HD, Garcia LS, eds. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 3rd ed. Washington, DC: ASM Press, 2010.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute *Methods For Antibiotic Susceptibility Testing Of Anaerobic Bacteria*. Approved Standard 2008. 7th ed. CLSI Document M11-A7. Wayne, PA: CLSI, 2008.
6. Wade WG. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol Res*. 2013; 69(1): 137-43. **[CrossRef]**
7. Veloo AC, Seme K, Raangs E, *et al.* Antibiotic susceptibility profiles of oral pathogens. *Int J Antimicrob Agents*. 2012; 40(5): 450-4. **[CrossRef]**
8. Byrd L. Examination of anaerobic culture plates for anaerobic bacteria. *In:* Isenberg HD, Garcia LS, eds. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 3rd ed. Washington, DC: ASM Press, 2010.
9. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 7.1. [İnternet]. Basel, Switzerland: EUCAST [erişim 20 Eylül 2019]. http://aurosan.de/images/mediathek/servicematerial/v_7.1_Breakpoint_Tables.pdf.
10. Stingu CS, Jentsch H, Eick S, Schaumann R, Knöfler G, Rodloff A. Microbial profile of patients with periodontitis compared with healthy subjects. *Quintessence Int.* 2012; 43(2): e23-31.
11. Dahlen G, Preus HR. Low antibiotic resistance among anaerobic Gram-negative bacteria in periodontitis 5 years following metronidazole therapy. *Anaerobe*. 2017; 43: 94-8. **[CrossRef]**
12. Goldstein EJC, Citron DM. Resistance trends in antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria, part I. *Clin Microbiol Newslett.* 2011; 33(1): 1-8. **[CrossRef]**
13. Goldstein EJC, Citron DM. Resistance trends in antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria, part II. *Clin Microbiol Newslett.* 2011; 33(2): 9-15. **[CrossRef]**
14. Gamboa F, Acosta A, García DA, Velosa J, Araya N, Ledergerber R. Occurrence of Porphyromonas gingivalis and its antibacterial susceptibility to metronidazole and tetracycline in patients with chronic periodontitis. *Acta Odontol Latinoam.* 2014; 27(3): 137-44.
15. Hastey CJ, Boyd H, Schuetz AN, *et al*. Changes in the antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria from 2007-2009 to 2010-2012 based on the CLSI methodology. *Anaerobe*. 2016; 42: 27-30. **[CrossRef]**
16. Boyanova L, Kolarov R, Mitov I. Recent evolution of antibiotic resistance in the anaerobes as compared to previous decades. *Anaerobe*. 2015; 31: 4-10. **[CrossRef]**
17. Byun JH, Kim M, Lee Y, Lee K, Chong Y. Antimicrobial susceptibility patterns of anaerobic bacterial clinical isolates from 2014 to 2016, including recently named or renamed species. *Ann Lab Med*. 2019; 39(2): 190-19. **[CrossRef]**
18. Rodloff AC, Dowzicky MJ. In vitro activity of tigecycline and comparators against a European collection of anaerobes collected as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (T.E.S.T.) 2010-2016. *Anaerobe*. 2018; 51: 78-88. **[CrossRef]**
19. Brook I, Wexler HM, Goldstein EJ. Antianaerobic antimicrobials: spectrum and susceptibility testing. *Clin Microbiol Rev*. 2013; 26(3): 526-46. **[CrossRef]**
20. Papaparaskevas J, Pantazatou A, Katsandri A, Legakis NJ, Avlamis A; Hellenic Study Group for Gram-Negative Anaerobic Bacteria. Multicentre survey of the in-vitro activity of seven antimicrobial agents, including ertapenem, against recently isolated Gram-negative anaerobic bacteria in Greece. *Clin Microbiol Infect*. 2005; 11(10): 820-4. **[CrossRef]**
21. Löfmark S, Edlund C, Nord CE. Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections. *Clin Infect Dis.* 2010; 50(Suppl. 19): S16-23. **[CrossRef]**